Aus dem Physiologischen Institut (Hallerianum) der Universität Bern
Direktor: Prof. Dr. A. v. Muralt

Photochemische Versuche an einzelnen Nervenfasern

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung der Würde eines Doctor Medicinae
der Universität Bern
vorgelegt von

Magdalena Hutton-Rudolph
aus Zürich

Bern / Buchdruckerei Büchler & Co. / 1944

Aus dem Physiologischen Institut (Hallerianum) der Universität Bern
Direktor: Prof. Dr. A. v. Muralt

Photochemische Versuche an einzelnen Nervenfasern

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung der Würde eines Doctor Medicinae
der Universität Bern
vorgelegt von

Magdalena Hutton-Rudolph
aus Zürich

Bern / Buchdruckerei Büchler & Co. / 1944

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Auf Antrag des Herrn Prof. Dr. A. v. **Muralt** von der Med. Fakultät zum Druck als Dissertation genehmigt.

Bern, den 12. Mai 1943.

Der Dekan der Med. Fakultät:
Prof. A. v. Muralt.

Photochemische Versuche an einzelnen Nervenfasern

Inhaltsangabe

Seite

1. Einleitung 3
2. Methodik 4
   a) Präparation der einzelnen Nervenfaser 4
   b) Versuchsanordnung 5
   c) Schaltung 7
   d) Lichtquelle 8
   e) Meßtechnik 10
3. Ergebnisse 12
   a) Bestrahlung mit dem ganzen UV-Spektrum: Internodale Strecke . . 12
   b) Bestrahlung mit dem ganzen UV-Spektrum: Ranvier'scher Schnürring 14
   c) Ausschaltung des kurzwelligen UV bis 300 mμ 15
   d) Ausschaltung des kurzwelligen UV bis 280 mμ 16
   e) Ausschaltung des kurzwelligen UV bis 265 mμ 16
   f) Ist der Bestrahlungseffekt reversibel? 17
   g) Was für eine Beziehung besteht zwischen Erregungsleitung und lokaler Erregbarkeit? 18
4. Andere Arbeiten 18
5. Diskussion 19
6. Zusammenfassung 21
7. Literatur 22

1. Einleitung

Um im Anschluß an die Arbeiten von v. Muralt (1) über die Beteiligung des Aneurins am Erregungsvorgang im peripheren Nerven weitere Aufschlüsse zu erhalten, wurde die Ultraviolett-Empfindlichkeit des Nerven näher untersucht. Aneurin wird von kurzwelligem Ultraviolett mit maximaler Wirkung bei 255 mμ zersetzt (2). Bestrahlungsversuche am ganzen Nerven sind für eine feinere Analyse unbrauchbar, da nur die peripher liegenden Fasern vom einfallenden Licht getroffen werden (3) und dadurch im Bestrahlungserfolg ganz unübersehbare Verhältnisse entstehen. Aus diesem Grunde wurde das Präparat der einzelnen überlebenden motorischen Faser nach Kato (4) und Tasaki (5) hergestellt und in den vorliegenden Versuchen ausschließlich verwendet. Die Erregbarkeit wurde durch fortlaufende Rheobase- und Chronaxiebestimmungen mit der Muskelzuckung als Indikator vor, während und nach dem Bestrahlen geprüft.

2. Methodik

a) Präparation der einzelnen Nervenfaser.

Die von Tasaki (5) beschriebene, unseres Wissens sonst nicht verwendete Präparationstechnik wurde, abgesehen von ein paar Einzelheiten, soweit wie möglich befolgt.

Es wird durchwegs das Sartorius-Nerv-Muskelpräparat von Rana esculenta verwendet. Da der Sartorius ein parallelfaseriger, relativ dünner Muskel ist, können die Kontraktionen besser beobachtet werden als beim Gastrocnemius, der von Kato und Tasaki meistens verwendet wurde. Der Sartoriusnerv hat im Gegensatz zu den zirka 850 Fasern des Ischiadicus nur zirka 100 Fasern, die alle in einer einzigen Nervenscheide liegen. Aus diesen Gründen haben wir diesen Nerven vorgezogen. Man braucht mittelgroße bis große Exemplare, da sonst die Präparation schwierig wird und die Nervenstrecken für die Messungen zu kurz sind. Der Sartoriusnerv wird von seiner Abzweigung aus dem Ischiadicus bis zum Muskel freipräpariert. Da der Nerv streckenweise zwischen Muskel und Faszie und nicht in den Bindegewebslogen verläuft, kann er bei makroskopischer Präparation ohne Verletzung nur schwer von Bindegewebe, Gefäßen und Muskelfragmenten befreit werden. Diese Bestandteile werden deshalb vorerst nicht abgelöst. Die Präparation ist (nach der Beschreibung zu urteilen) schwieriger als diejenige an der viel größeren japanischen Kröte, die von Kato und Tasaki verwendet wurde. Je größer die Tiere sind, desto größer sind auch die Fasern.

Nachdem das Präparat während ½ bis 1 Stunde in Ringerlösung nach Tasaki [1] gelegen ist, wird es auf einem Objektträger unter das Zeißsche Präpariermikroskop gebracht. Dabei darf kein Überschuß an Ringerlösung bestehen, da der Nerv sonst herumschwimmt und die einzelnen Fasern immer wieder zusammenkleben. Anderseits darf der Nerv nicht austrocknen. Unter der schwachen Vergrößerung (32fach) wird mit zwei feinen, vorn lanzettenförmig abgeflachten spitzen Nadeln das Bindegewebe direkt am Muskel mit wiegenden Bewegungen durchtrennt, vom Nerven gelöst und zurückgeschoben, bis der Nerv mindestens 3 cm weit frei liegt. Unter der stärkeren Vergrößerung (72fach) wird das Perineurium zirka 1 cm vom Muskel entfernt gespalten und kann in beiden Richtungen dem Nerven entlang wie ein Schlauch zurückgestoßen werden, bis die Faserbündel 3—4 mm weit frei liegen. Bis dahin soll der Muskel nie zucken, da keine Fasern verletzt werden. Die Fasern werden

[1] Die Ringerlösung nach Tasaki (5) hat sich der gewöhnlichen Ringerlösung als weit überlegen erwiesen. Sie hat folgende Zusammensetzung: NaCl 0,65 %, KCl 0,014 %, $CaCl_2$ 0,012 %, $NaHCO_3$ 0,02 %, NaH_2PO_4 0,001 %, Glukose 0,2 %. Es ist äußerst wichtig, daß die Ringerlösung immer frisch ist und sehr sorgfältig hergestellt wird. Vor allem die Glukose muß immer frisch zugegeben werden, da durch ihren bakteriellen Abbau pH-Veränderungen hervorgerufen werden.

nun seitlich auseinandergezogen und eine nach der andern durchtrennt, wobei der Muskel jedesmal zuckt, wenn eine motorische Faser getroffen wird. Nach Erlanger und Blair (6) haben die motorischen A-Fasern, die die kleinste Chronaxie und beste Erregbarkeit aufweisen, den größten Durchmesser. Deshalb sucht man sich eine möglichst dicke, unverletzte Faser aus und durchtrennt die übrigen. Es gelingt dann relativ leicht, die Faser auf eine Länge von 3—4 mm freizupräparieren, so daß mindestens ein, oft zwei Ranviersche Schnürringe frei liegen. Der Abstand zwischen zwei Ranvierschen Schnürringen beträgt bei Rana esculenta 2,5 bis 3 mm. Ein gutes, isoliertes Präparat ist galvanisch (distaler Reiz mit einer kleinen Zink-Kupfer-Pinzette) ebenso leicht erregbar wie der ganze Nerv, wobei sich immer das gleiche, eng umschriebene Muskelbündel makroskopisch gut sichtbar kontrahiert. Die einzelne Faser reagiert nach dem Alles-oder-nichts-Gesetz (4). Falls die durch die einzelne Faser innervierten Muskelfasern auf der Unterseite des Muskels liegen, sind die Kontraktionen oft nur schwer zu sehen. Neben der elektrischen wird auch die mechanische Reizung (Durchschneiden des peripheren Nervenendes) vorgenommen, um eine eventuelle Täuschung durch Strom-Nebenschlüsse auszuschließen. Der Nerv mit der isolierten Faserstrecke wird, in einem Überschuß von Ringerlösung schwimmend, auf den Muskel geschoben. So kann das Präparat ohne Schädigung auf die im nächsten Abschnitt beschriebene Versuchskammer gebracht werden.

b) Versuchsanordnung.

Die Versuchskammer ist nach dem Prinzip eines Brückenisolators von Tasaki (5, 7) gebaut. Sie besteht aus einer Metallplatte, bei welcher in der Mitte ein Loch von 3 cm Durchmesser ausgebohrt ist. Dieses Loch ist mit einer dünnen Bergkristallplatte verschlossen, welche die Bestrahlung von unten her ermöglicht. Auf der Bergkristallplatte sind drei Glaskapillaren (Gräte) von 0,5 mm Durchmesser, wie in Abb. 1 er-

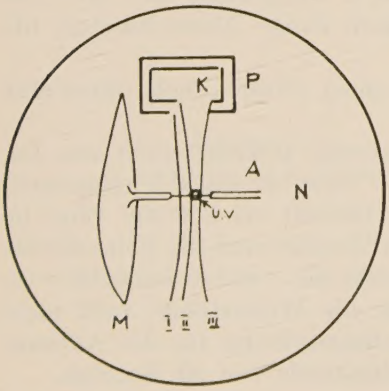

Abbildung 1.
Schema der Versuchskammer. Erklärung siehe Text. N = Nerv, M = Muskel, I, II, III = Gräte, A = Anode, K = Kathode, U. V. = Bestrahlungsstelle.

sichtlich, mit Paraffin fixiert. Die zwischen den Gräten I und II liegende Rinne ist 0,5 mm breit und bildet die sogenannte Brücke (5, 7). Die zwischen II und III liegende Rinne ist an ihrer engsten Stelle 1 mm breit und steht mit einem kleinen Paraffintrog in Verbindung. Sie ist immer mit Ringerlösung gefüllt. Die ganze Platte ist zur Isolation mit einer Paraffinschicht überzogen. Diese Paraffinschicht wird nur in der großen Rinne zwischen II und III entfernt, da dort die Bestrahlung von unten erfolgt. Der Nerv wird in einem Überschuß von Ringerlösung quer über die Gräte so gelegt, daß entweder ein Ranvierscher Schnürring oder eine internodale Strecke in die große Rinne eintaucht. Erst wenn der Nerv richtig liegt, wird die Ringerlösung mit einer feinen, gebogenen Saugpipette von den Gräten und aus der Rinne I—III sorgfältig entfernt. Dies wird durch die Paraffinschicht wesentlich erleichtert. Die intakten Nervenenden und der Muskel bleiben ständig mit Ringerlösung befeuchtet. Um auch die auf den Gräten liegenden Faserstrecken vor Austrocknung zu schonen, wird mit einem speziell zugeschnittenen und mit feuchtem Filtrierpapier ausgekleideten Glasdeckel eine feuchte Kammer hergestellt. Fortlaufende Messungen der Widerstände, die durch Austrocknung erhöht werden, haben gezeigt, daß bei Temperaturen unter 17° C konstante Verhältnisse sind. Bei höheren Temperaturen ist es schwer, die Austrocknung zu verhindern. Da die Ranvier'schen Schnürringe bei gestreckter Faser im Präpariermikroskop nur schwer zu sehen sind, wird die Lage der Faser vor Beginn der Messungen nochmals mit dem Polarisationsmikroskop kontrolliert und wenn nötig verändert.

Als Elektroden dienen unpolarisierbare Kalomel-Halbzellen mit einem Widerstand von je 30 000 Ohm. (Abb. 2.) Die Kathode taucht in den Paraffintrog ein und reizt direkt am bestrahlten Faserabschnitt. Die Anode wird distal vom Muskel an den intakten Nerv angelegt. Auf Leitung wird distal von der isolierten Strecke mit der galvanischen Pinzette geprüft, welche eine Spannung bis zu 1 Volt liefert.

Obwohl diese Versuchsanordnung sich weitgehend an die von Tasaki beschriebene anlehnt, bestehen doch einige Abweichungen, die erwähnt werden müssen :

1. Anode und Kathode sind nur durch einen « Grat », nicht durch eine Brücke voneinander getrennt.
2. Die auf den Gräten liegende Faserstrecke trocknet nicht aus. Die Nebenschlüsse werden infolgedessen nicht so stark herabgesetzt. Die Widerstände werden kleiner (150 000 bis 300 000 Ohm im Gegensatz zu mehr als 1 Megohm bei Tasaki) und die Reizschwelle entsprechend höher. Es wird also nicht die « wahre Schwelle » (8) bestimmt. Bei Tasaki sind übrigens die Widerstände auch nicht immer gleich groß. Bei der Versuchsanordnung für die Aktionsstrombestimmung (9) erhält er Widerstände von 90 Megohm.

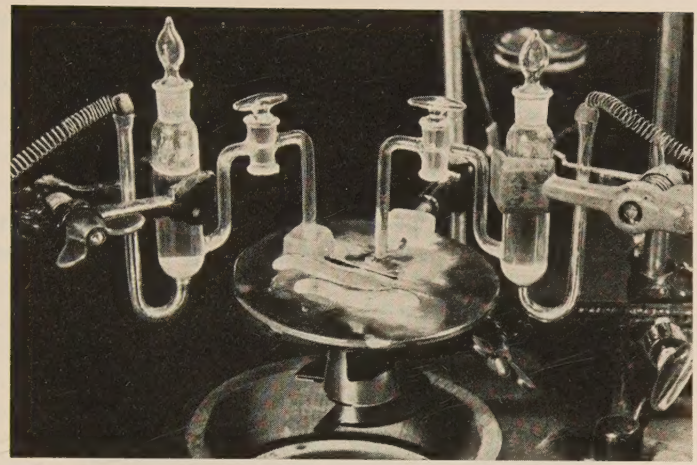

Abbildung 2.
Elektroden und Versuchskammer.

3. Die eigentliche « Brücke » liegt zwischen Kathode und Muskel. Eine direkte Reizung des proximalen Nerventeiles oder des Muskels wird dadurch ausgeschlossen. Soviel wir beurteilen können, bringen diese Abweichungen prinzipiell für die Ergebnisse keine Unterschiede.

c) Schaltung.

Die Schaltung ist in Abb. 3 dargestellt und entspricht der üblichen Anordnung. Die Spannungen werden über einen Stromwender von dem Akkumulator potentiometrisch in zwei Stufen abgegriffen und mit einem Präzisions-Millivoltmeter gemessen. Die unpolarisierbaren Elektroden

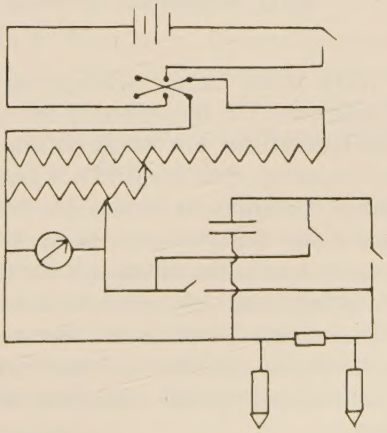

Abbildung 3.
Schaltschema (s. Text).

(Kalomel-Halbzellen von 30 000 Ohm) sind mit 15 000 Ohm geshuntet. Als Kondensator wird ein variabler Kondensatorsatz (geeicht) verwendet. Die Stromschlüssel sind Quecksilber-Vacuum-Kontakte, die saubere Ein- und Ausschaltungen ohne Klirreffekte ermöglichen.

d) Lichtquelle.

Als Ultraviolett-Lichtquelle dient eine Quecksilber-Höchstdrucklampe (Typ Osram-Dampflampe HBO 501) mit einer Leistungsaufnahme

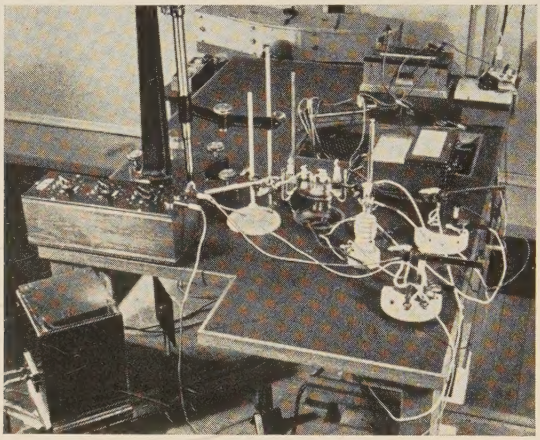

Abbildung 4.
Überblick über die Reizapparatur. Die Quecksilberdampflampe, von der die Bestrahlung von unten erfolgt, ist links aussen unter dem Tisch sichtbar. Auf dem Tisch befinden sich Versuchskammer und Elektroden, Stromschüssel, Kondensator und Voltmeter. Akkumulator, Galvanometer und Pontentiometer befinden sich unterhalb des Tisches und sind verdeckt.

von 500 Watt. Diese Lampe erzeugt ein Linienspektrum mit einem merklichen Kontinuum. Die Bestrahlung erfolgt von unten. Der Lichtstrahl wird durch eine Quarzlinse, ein Bergkristallprisma und einen Quarzmikrokondensor so gerichtet, daß das Bild der Leuchtblende mit einem Durchmesser von 1 mm auf die Rinne zwischen den Gräten II—III fällt. Es wird also nur eine 1 mm lange Faserstrecke bestrahlt. Da die Strecke zwischen zwei Schnürringen durchschnittlich 2,5 bis 3 mm beträgt, kann also ein Ranvier'scher Schnürring oder eine internodale Faserstrecke zur Bestrahlung eingestellt werden (siehe auch Versuchsanordnung). Nebenlicht wird durch den bereits erwähnten Paraffinüberzug auf beiden Seiten abgeschirmt. Die Lampe muß vor dem Bestrahlen mindestens ½ Stunde einbrennen.

Sofern es sich darum handelt, mit dem ganzen UV-Spektrum zu bestrahlen, liegen die Verhältnisse relativ einfach. Eine genaue Kontrolle der Lampe und gleichbleibende Einstellung des optischen Apparates genügt für die Sicherstellung einer konstanten Bestrahlungsintensität, auch wenn die UV-Menge an der Bestrahlungsstelle selbst nicht quantitativ gemessen wird. Schwierigkeiten treten dann auf, wenn mit einzelnen Wellenlängen gearbeitet werden soll. Die gebräuchlichen Doppelmonochromatoren (und nur solche kommen in Frage) arbeiten mit so großen Intensitätsverlusten, daß bisher keine befriedigende Lösung gefunden wurde. Deshalb wurden zur Ausfilterung bestimmter Spektralbezirke Glas- und Flüssigkeitsfilter (10) verwendet. Die Auswahl an Filtern für das kurzwellige UV unter 310 mμ, welches vor allem interessiert, ist aber beschränkt.

1. *Glasfilter:* Es eignen sich WG-Filter von Schott:

WG 4 bis etwa 315 mμ durchlässig
WG 5 bis etwa 300 mμ durchlässig
WG 6 bis etwa 280 mμ durchlässig
WG 7 bis etwa 265 mμ durchlässig
WG 8 bis ins kurzwellige UV durchlässig.

2. *Flüssigkeitsfilter:* Es wurden verwendet:

Aneurinlösung	1 : 100	Linie 302 noch sichtbar unterhalb 302 alles ausgelöscht.
»	1 : 1000	Linie 284 noch sichtbar unterhalb 284 alles ausgelöscht.
Tryptophan	0,05 %	Linie 284 noch sichtbar zwischen 284 und 260 alles ausgelöscht, bei 250 kommt eine geringe Menge UV durch.

Die filtrierenden Flüssigkeiten werden in Quarzküvetten in den Strahlengang gebracht. Um immer dieselben Reflexionsverluste zu haben, wird bei den Kontrollversuchen eine mit Wasser gefüllte Quarzküvette in den Strahlengang gebracht. Die nicht sehr starke Wärmestrahlung der Lampe ist dadurch in allen Versuchen ausgeschaltet.

Die Nachteile der Filter sollen hier kurz angedeutet werden. Alle Filter schneiden das UV unter 250 mμ ab, so daß über die Wirksamkeit des kurzwelligen UV keine Aufschlüsse erhalten werden können. Weder Glasfilter noch Flüssigkeitsfilter schneiden scharfe Spektralbezirke aus, sondern es handelt sich immer um relativ breite Wellenlängenbereiche. Eine weitere Schwierigkeit besteht darin, daß die Quecksilberlampen neben dem Kontinuum Linienspektren geben, wobei die Intensitäten bei einzelnen Wellenlängen stark variieren.

e) **Meßtechnik.**

Prinzip : In einer Vorphase wird durch fortlaufende Rheobase- und Chronaxiebestimmungen die Erregbarkeit geprüft. Wenn konstante Bedingungen eingetreten sind, wird der Bestrahlungseffekt durch Messung der Erregbarkeitsveränderung beobachtet.

Ausführung : Das Präparat wird auf dem Brückenisolator nochmals 1 Stunde liegen gelassen; erst dann wird mit den Messungen begonnen. Präparat, Ringerlösung und Elektroden dürfen nicht mehr berührt werden, da sonst die Messungen an Genauigkeit einbüßen. Als Fehlerquelle kommt der Einfluß des Elektrodenabstandes (Schaefer 8) usw. und die Shuntwirkung der Ringerlösung in Frage. Um nähere Aufschlüsse über die Shuntwirkung der Ringerlösung zu erhalten, wurden die Widerstände durch Zugeben und Absaugen der Ringerlösung variiert und dauernd kontrolliert. (Abb. 5.) Im Bereich von 140 000 bis 300 000 Ohm, in dem die Messungen normalerweise vorgenommen werden, ist der Einfluß des Präparatwiderstandes auf die Reizschwelle sehr gering. Nur ein starker Überschuß von Ringerlösung und damit größere Shuntwirkung erfordert höhere äußere Spannung (und diese wird ja gemessen !). Es wird immer absteigend gereizt, d. h. die Kathode liegt muskelnahe. Rheobase und Chronaxie werden während ¼ bis 2 Stunden in Zeitabständen von 5—20 Minuten geprüft und müssen innerhalb bestimmter Grenzen konstant sein. 5—10 Minuten vor Beginn der Bestrahlung wird in Zeitabständen von nur einer Minute gemessen, damit die Bedingungen genau gleich sind wie während der Bestrahlung. Zur Bestimmung eines Meßwertes sind selten mehr als 3—5 Reize nötig, die in Zeitintervallen von minimal 5 Sekunden gesetzt werden. Erst beim raschen Anstieg von Rheobase und Chronaxie unter dem Bestrahlungseffekt wird eine genaue Bestimmung schwierig, da die Werte innert 5 Sekunden stark ändern können. Wird in kürzeren Zeitabständen als 5 Sekunden gereizt, so ist oft zu beobachten, daß ein zweiter Schwellenreiz nicht mehr beantwortet wird. Nach ein paar Sekunden Ruhe erhält man dann wieder den ursprünglichen Schwellenwert. Dies hängt mit den oft beschriebenen elektrotonischen (8) Veränderungen zusammen, die immer auftreten und beim Gleichstromreiz verstärkt sind. Kato und Tasaki (5) warten zwischen zwei Reizen bis 20 Sekunden. Bei unseren Versuchen ist dies wegen der raschen Änderungen aber nicht möglich. In 5 Sekunden dürften die Unregelmäßigkeiten der Reizbeantwortung für unsere Zwecke genügend ausgeschaltet sein. Es kommt hier nicht so sehr darauf an, die wahre Schwelle (8) zu bestimmen, als darauf, durch konstante Versuchsbedingungen vergleichbare Werte zu erhalten.

Die Verschiedenheit der Meßwerte bei Reizung « von unten her » und « von oben her » (8) ist bei der einzelnen Faser geringer als beim

ganzen Nerv (5). Nur bei steigender Rheobase und beginnender Schädigung hat man den Eindruck, die Schwelle « vor sich her zu schieben » (8).

Zahlreiche Vorversuche haben gezeigt, daß ein unbestrahltes Präparat 4—7 Stunden bezüglich (Abb. 5) Rheobase und Chronaxie innerhalb der physiologischen Grenzen konstant bleibt. Leitung und mechanische Erregbarkeit bei distalem Reiz sind ebenfalls erhalten. Die Bedingungen sind 2—4 Stunden nach der Präparation optimal. Die Versuche müssen innerhalb dieser Frist beendet sein, da sonst der Bestrah-

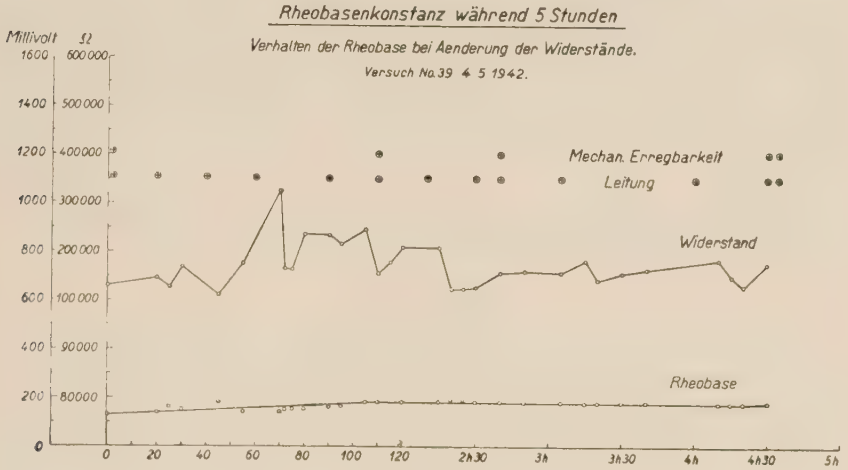

Abbildung 5.

Rheobasenkonstanz bei einem unbestrahlten Präparat. Abszisse = Zeit in Minuten. Ordinate = Rheobase in Millivolt, Widerstand in Ohm. 24 Messungen innert 5 Stunden. Die Rheobase steigt innerhalb der ersten Stunde von 140 auf 180 mV, schwankt während weiterer 4 Stunden zwischen 175 und 185 mV, also zirka 5 %. Mechanische und galvanische Erregbarkeit sind dauernd erhalten (mit ⊕ angedeutet). Die Widerstände des Präparates werden zwischen 140 000 und 300 000 Ohm variiert.

lungseffekt mit Rheobasenschwankungen zusammenfallen könnte. Die Präparate, welche ohne Schädigung auf die Versuchskammer gebracht werden können (zirka 20 % aller Präparate) eignen sich fast alle zu den Messungen. Die Rheobasenwerte, gemessen an den äußeren Elektroden, schwanken zwischen 100 und 400 mV, liegen meistens zwischen 100 und 200 mV. Die Chronaxiewerte schwanken von 0,4 bis 1,4 m/sec, liegen normalerweise zwischen 0,6 und 0,8 m/sec. Die Schwellenwerte sind im Winter höher als im Sommer. Schwankungen von Präparat zu Präparat kommen immer vor, können aber beim Arbeiten mit der isolierten Faser auch dadurch bedingt sein, daß infolge der willkürlichen Auswahl der Faser nicht immer die gleiche Fasersorte getroffen wird (Blair und Erlanger 6). Anderseits wurde mehrere Male beobachtet, daß bei zwei

Präparaten desselben Frosches die Rheobasen- resp. Chronaxiewerte fast identisch sind. Bei ein- und demselben Präparat kommen Rheobaseschwankungen bis zu 40 % vor, die sich meistens in einem Schwellenanstieg zeigen. Plötzliche Rheobasensenkung tritt bei unbestrahlten Präparaten nie auf. Es werden nur Fasern bestrahlt, die in den letzten 10 Minuten vor dem Bestrahlen Schwankungen von nicht mehr als 5 % aufweisen. Unbrauchbar für die Bestrahlung ist ein Präparat dann, wenn die Schwellenwerte unregelmäßig sind, wenn mechanische Übererregbarkeit, Öffnungszuckungen und rhythmische Reizbeantwortung (Schriever 11, 12) auftreten. Die Muskelzuckung muß deutlich sichtbar und gemäß dem für die einzelne Faser geltenden « Alles-oder-nichts-Gesetz » (Kato 4) immer gleich stark sein. Hohe Chronaxiewerte bei normaler Rheobase deuten auch auf Schädigung hin. Die Chronaxiebestimmung ist bei dieser Versuchsanordnung weniger zuverlässig als die Rheobasebestimmung.

Die Versuche wurden fast alle in den Winter- und Frühlingsmonaten vorgenommen. Die Zimmertemperatur überstieg 17° C selten.

3. Ergebnisse

Es werden zwei Serien von je 38 und 22 Versuchen, die vom November 1942 bis Ende Januar 1943 und 12. April 1943 bis 11. Mai 1943 unter konstanten Bedingungen vorgenommen wurden, vollständig beschrieben. Einige von den 60 Vorversuchen, an denen vor allem die Zuverlässigkeit der Methode geprüft wurde, werden am Schluß erwähnt.

a) Bestrahlung mit dem ganzen UV-Spektrum:

Internodale Strecke

Die 32 Versuche, von denen Abb. 6 ein Beispiel darstellt, wurden zu verschiedenen Zeiten als Kontrollen eingeschaltet. Wenige Sekunden nach Beginn der Bestrahlung setzt eine Rheobasensenkung ein, die zwischen 20 und 150 mV beträgt und bis zu 50 % des ursprünglichen Schwellenwertes ausmachen kann. Das Maximum der Senkung ist nach 2—4 Minuten erreicht. Dann erfolgt wieder ein Schwellenanstieg. Diese erste Phase (im folgenden als *Phase der Übererregbarkeit* bezeichnet) dauert vom Bestrahlungsbeginn bis zum Moment, wo die ursprüngliche Schwelle wieder erreicht ist und variiert zeitlich zwischen 3 und 8 Minuten. Die Reizleitung bleibt erhalten. Anschließend erfolgt ein rascher Anstieg der Rheobase bis zur Unerregbarkeit (im folgenden als *Phase der Zerstörung* bezeichnet). Als unerregbar bezeichnen wir die Faser dann, wenn bei einer Spannung von 2 Volt, also ungefähr 10facher Rheobase, keine Reizbeantwortung mehr erfolgt. In manchen Fällen wird beim Übergang von der ersten zur zweiten Phase eine leichte Abflachung der Kurve beobachtet. Die Reizleitung hört beim Übergang zur

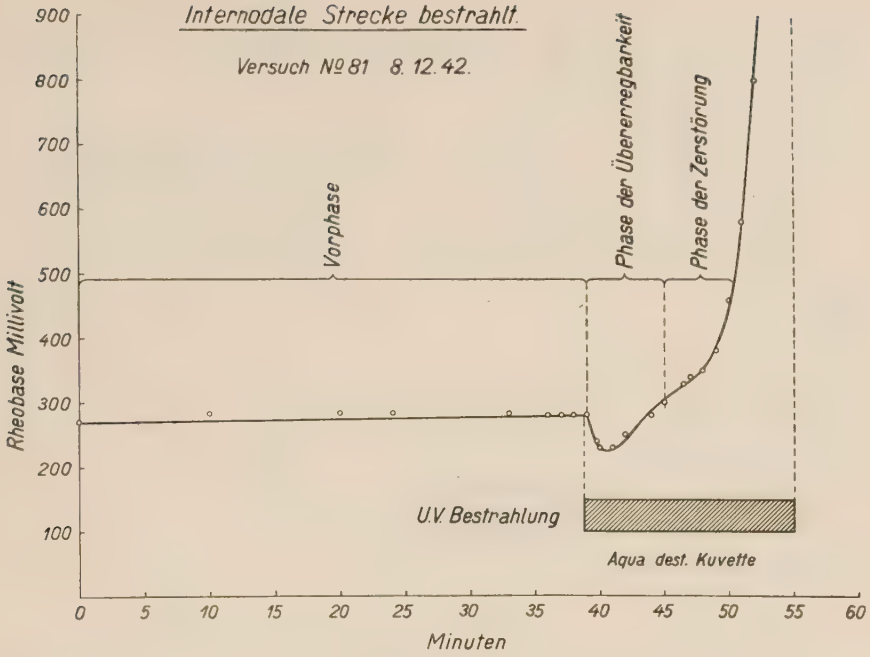

Abbildung 6.

Bestrahlung einer internodalen Faserstrecke.

Abszisse = Zeit in Minuten. Ordinate = Rheobase in Millivolt. Beispiel von 32 Versuchen. Die Senkung der Rheobase setzt wenige Sekunden nach Beginn der Bestrahlung ein. Das Maximum ist nach 2 Minuten erreicht (Phase der Übererregbarkeit). Anschließend rascher Anstieg bis zur Unerregbarkeit (Phase der Zerstörung). Die Bestrahlungszeit bis zur Zerstörung beträgt 17 Minuten.

zweiten Phase auf. Die mittlere Bestrahlungszeit bis zur Zerstörung beträgt 11 bis 15 Minuten, in Extremfällen 9 und 21 Minuten. Abweichungen traten nur in zwei Fällen ein; im ersteren erfolgte ein rascher Rheobasenanstieg, wie er später für die Bestrahlung der Schnürringe beschrieben wird, im letzteren war die Gesamtbestrahlungszeit auf 38 Minuten verlängert. Die Chronaxie zeigt weniger charakteristische Schwankungen. Sie bleibt während der ersten Phase entweder unverändert, um in der zweiten Phase später als die Rheobase zuzunehmen, oder sie sinkt in der ersten Phase und behält in der zweiten Phase die niederen Werte lange bei. In seltenen Fällen treten während der ersten Phase Übererregbarkeitserscheinungen, spontane Muskelkontraktionen und rhythmische Reizbeantwortung als Zeichen einer beginnenden Schädigung auf. Wird nach Beendung der Bestrahlung der proximale, d. h. muskelnahe Abschnitt des Nerven gereizt, so erhält man die ursprünglichen Rheobasen- und Chronaxiewerte.

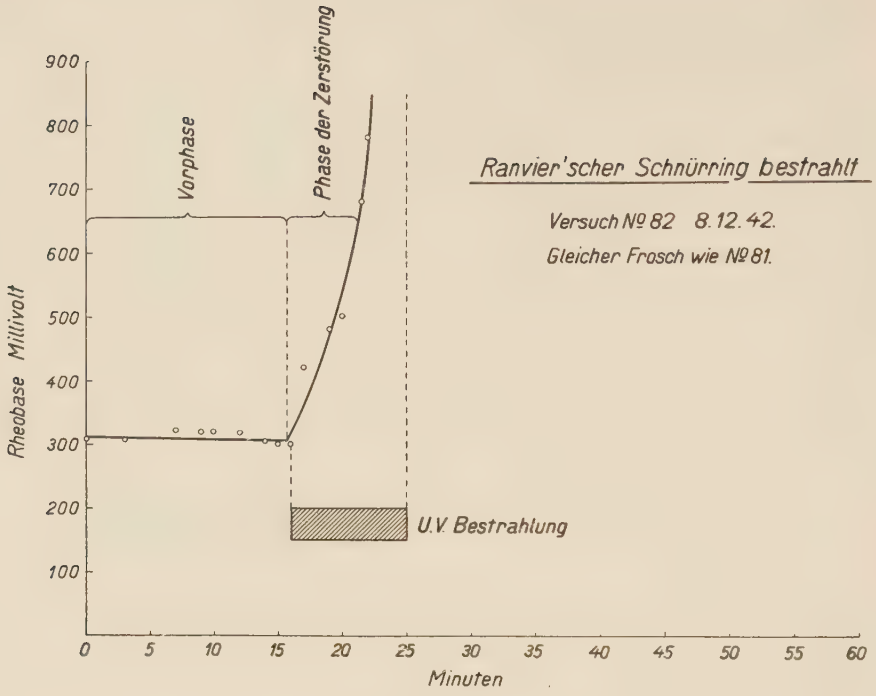

Abbildung 7.

Bestrahlung eines Ranvier'schen Schnürringes. Beispiel aus 12 Versuchen. Abszisse = Zeit in Minuten. Ordinate = Rheobase in Millivolt. Rascher Anstieg der Rheobase.

b) **Bestrahlung mit dem ganzen UV-Spektrum. Ranvier'scher Schnürring.**

Abb. 7 stellt ein Beispiel aus 12 Versuchen dar. Die Phase der Übererregbarkeit kann in vielen Fällen beobachtet, aber da sie nur einige Sekunden dauert, nicht gemessen werden. Nach einer Minute ist die Rheobase schon stark gestiegen, und nach 2—8 Minuten ist die Phase der Zerstörung beendet. Die Chronaxie kann in diesen Fällen aus zeitlichen Gründen nicht gemessen werden. Erscheinungen der Übererregbarkeit sind oft vorhanden und können die Messungen erschweren. Dieser Unterschied im Bestrahlungseffekt bei internodaler Strecke oder Ranvier'schem Schnürring wurde schon in den Vorversuchen, ferner ohne Ausnahme an 30 hier noch nicht beschriebenen Versuchen beobachtet und konnte mehrere Male an zwei Präparaten desselben Frosches nachgewiesen werden.

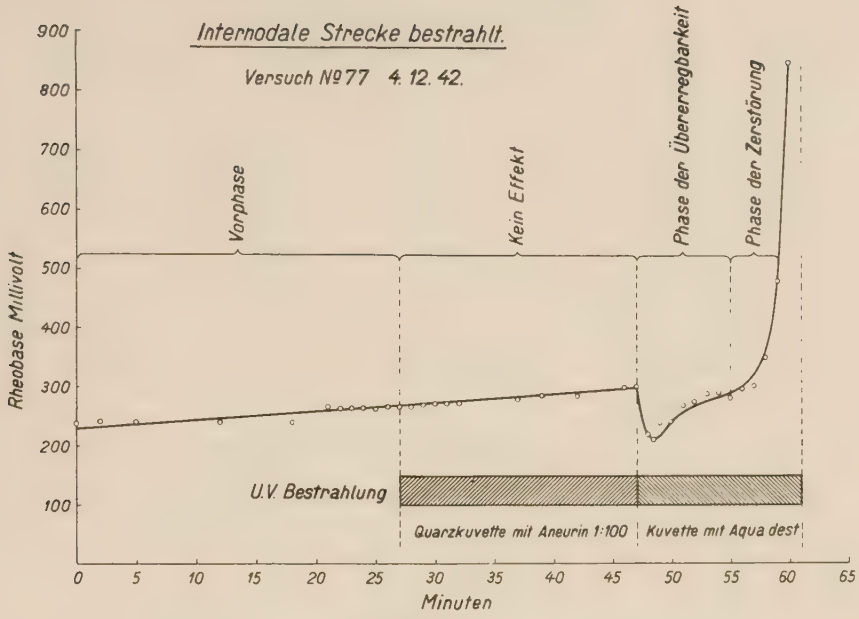

Abbildung 8.

Bestrahlung unter Ausschaltung der Wellenlängen unterhalb 300 mμ durch ein Aneurinfilter 1 : 100. Abszisse = Zeit vor und während der Bestrahlung mit Ausschaltung des kurzwelligen U. V. unter 300 m und Zeit während der Bestrahlung mit Einschluß des kurzwelligen U. V. Mit Einsetzen der kurzwelligen Bestrahlung setzt der charakteristische Effekt ein.

c) Ausschaltung des kurzwelligen UV bis 300 mμ durch Aneurinfilter 1:100 und Schottfilter WG 5.

Abb. 8. Bei fünf Versuchen blieb die Wirkung ganz aus. Nach Ersetzen der Aneurinküvette durch eine mit Wasser gefüllte Küvette trat der bei *a)* geschilderte Kurvenverlauf ein. Bei drei Versuchen wurde eine Rheobasensenkung beobachtet, die sehr lange dauerte und auf die keine Zerstörungsphase folgte. (Beobachtungsdauer 2 Stunden.) Bei einem weiteren Versuch wurde ein Ranvierscher Schnürring bestrahlt (was sonst in diesen Fällen vermieden wurde) und ein 2 Stunden dauernder Kurvenanstieg ohne Rheobasensenkung beobachtet. Bei 300 mμ ist noch eine geringe UV-Wirkung vorhanden (vgl. Audiat 13).

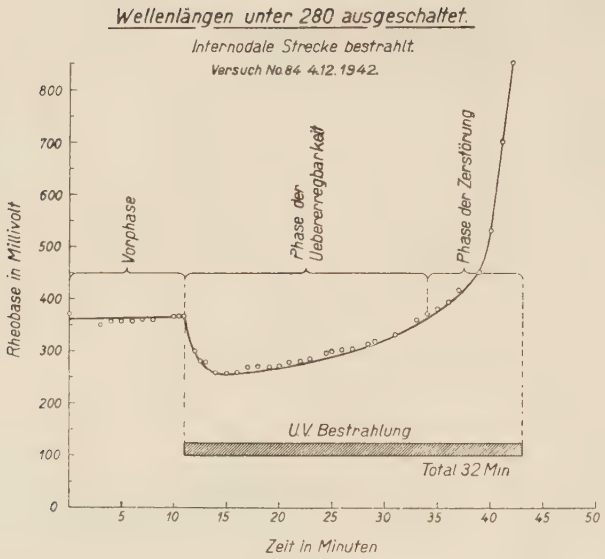

Abbildung 9.

Bestrahlung mit Ausschaltung der Wellenlängen unterhalb 280 mμ durch Aneurinfilter 1 : 1000. Der Bestrahlungseffekt ist vorhanden, aber verzögert.
Abbildungen 6—9 sind im gleichen Maßstab gezeichnet.

d) Ausschaltung des kurzwelligen UV bis ca. 280 mμ durch Aneurinlösung 1:1000, 0,5%ige Tryptophanlösung und WG 6 Filter.

Abb. 9. Alle sieben Versuche sind durch eine bis 20 Minuten dauernde, sehr starke Rheobasensenkung charakterisiert. Der weitere Kurvenverlauf geht langsam vor sich. Die Gesamtbestrahlungszeit variiert von 34 bis 58 Minuten, unterscheidet sich also deutlich von den unter *a)* beschriebenen Ergebnissen. Die Chronaxie bleibt auch hier uncharakteristisch.

e) Ausschaltung des kurzwelligen UV bis 265 mμ durch Schottfilter WG 7.

Bei den vier Versuchen (nur internodale Strecke bestrahlt) dauert die Rheobasensenkung zwischen 8 und 15 Minuten, während die Gesamtbestrahlungszeit 24, 26, 30 und 45 Minuten beträgt. Die Empfindlichkeit ist also gegenüber den bei *d)* angeführten Versuchen erhöht.

Die Ergebnisse in bezug auf Wellenlängenabhängigkeit des Bestrahlungseffektes können also vorläufig folgendermaßen formuliert werden: Wellenlängen über 300 mμ haben auf die Erregbarkeit der Nervenfaser keinen Einfluß. Von 300 mμ an abwärts ist ein Bestrahlungseffekt fest-

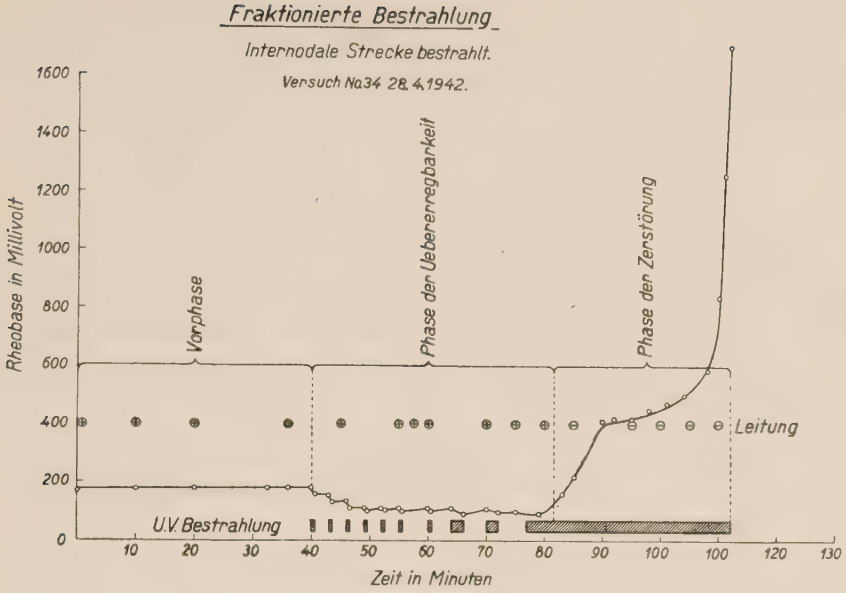

Abbildung 10.

Abszisse = Zeit in Minuten. Ordinate: Rheobase in mV. Die typische Rheobasensenkung ist vorhanden. Beim Aufhören der Bestrahlung tritt jedesmal eine Erholung ein. Die Lichtintensität ist schwächer als bei den Versuchen 6—9.

zustellen, der gegen das kurzwellige UV hin zunimmt. Das Maximum des Bestrahlungseffektes liegt unterhalb 280 mμ, kann aber mit den erwähnten Filtern nicht genau ermittelt werden.

f) Ist der Bestrahlungseffekt reversibel ?

Um Aufschlüsse über diese Frage zu erhalten, wurde die fraktionierte Bestrahlung angewendet.

Abb. 10 zeigt ein Beispiel, bei dem in Intervallen von 3 Minuten jeweils während 30 Sekunden bestrahlt wurde. Die typische Rheobasensenkung ist vorhanden. Beim Aufhören des Bestrahlens tritt jedesmal eine Erholung, also in diesem Fall eine Schwellenzunahme ein. Die Phase der Übererregbarkeit ist verlängert. Bei nachfolgender kontinuierlicher Bestrahlung tritt die übliche Zerstörung ein. Zahlreiche Versuche dieser Art zeigen, daß während der ersten Phase eine Restitution wohl möglich, aber nicht sicher ist. In der zweiten Phase wird durch Weglassen der Bestrahlung die Zerstörung wohl verzögert, aber nicht verhindert. Die durch das UV ausgelösten Veränderungen gehen also von einem gewissen Zeitpunkt an unabhängig von der Bestrahlung weiter. Die Erregbarkeit kehrt, nachdem sie erloschen ist, nicht zurück. Diese Ergebnisse

stehen im Gegensatz zu den von *Audiat* gefundenen (3). Sie lassen sich aber dadurch erklären, daß beim ganzen Nerven, wie er in den Versuchen von Audiat verwendet wurde, die Fasern im Innern des Nerven nur wenig geschädigt werden und sich erholen können.

g) Was für eine Beziehung besteht zwischen Erregungsleitung und lokaler Erregbarkeit ?

Um quantitative Aufschlüsse über die Erregungsleitung zu erhalten, wird eine dritte Elektrode muskelfern von der bestrahlten Faserstelle angelegt. Ein Stromschlüssel sorgt dafür, daß abwechselnd an der bestrahlten Stelle oder distal gereizt werden kann. Die Elektroden liegen in diesem Fall am ganzen Nerven an einer Stelle, an der infolge der Bindegewebsschicht die Shuntwirkung erheblich ist. Die Schwellenwerte, die bei distalem Reiz das 2- bis 3fache betragen, eignen sich nicht gut zu Vergleichszwecken. Soweit die Versuche beurteilt werden können, wird die Erregungsleitung bei Bestrahlung früher zerstört als die lokale Erregbarkeit.

Die Versuche, die ohne Rheobasensenkung verlaufen, zeigen oft nach anfänglichem Aufstieg der Rheobase eine bis 30 Minuten dauernde Abflachung der Kurve, ähnlich der unter *a)* beschriebenen Abflachung. Man erhält dabei den Eindruck, daß verschiedene Prozesse sich ablösen. Die Möglichkeit, daß es sich um Versuchsfehler handelt, ist aber zu groß, als daß daraus Schlüsse gezogen werden könnten.

Es muß noch erwähnt werden, daß auch Versuche am ganzen Sartoriusnerv gemacht wurden. Obwohl die Messungen weniger genau sind, entsprechen die Beobachtungen denjenigen bei der isolierten Faser. Die Phase der Übererregbarkeit trat bei 85 % der Fälle ein. Die Zerstörungsphase war bedeutend verlängert.

4. Andere Arbeiten über die UV-Bestrahlung peripherer Nerven

Über Bestrahlung isolierter Nervenfasern sind in der Literatur keine Angaben zu finden. Die wichtigsten zugänglichen Arbeiten über die Bestrahlung ganzer Nerven stammen von *Audiat* (3, 12, 13). Audiat bestrahlte in 192 Versuchen Ischiadicuspräparate von Rana fusca, esculenta und temporaria. Der ganze Nerv wurde während der Bestrahlung in einem Bad von physiologischer Lösung (Eau physiologique) gehalten, wobei durch ständige Zirkulation der Lösung für Konstanthaltung von Temperatur und pH gesorgt wurde. Für die Messungen mußte der Nerv jedesmal in eine Spezialkammer gebracht werden. Audiat erhielt folgende Ergebnisse :

1. Progressiver Schwellenanstieg.
2. Abnahme der Chronaxie.

3. Die Erregbarkeit hört auf, nachdem die Chronaxie auf ½ bis ⅓ des ursprünglichen Wertes gesunken, die Rheobase auf das 2- bis 9fache des ursprünglichen Wertes gestiegen ist.
4. Diese Vorgänge sind reversibel. Die Zeit, die zum Wiedereintreten der Erregbarkeit benötigt wird, hängt einzig von Dauer und Intensität der Bestrahlung ab.
5. Die zwischen dem bestrahlten Nervenanteil und dem Muskel liegende Nervenstrecke behält die ursprüngliche Erregbarkeit bei, trotzdem sie in der bestrahlten Flüssigkeit liegt. Dies beweist, daß eine chemische Veränderung der physiologischen Lösung durch das Ultraviolett ohne Einfluß ist.
6. Filter, die für kurzwelliges UV unter 310 mμ undurchlässig sind, schalten den Effekt aus.
7. Audiat schließt infolge der langsamen Restitution einen direkten photochemischen Effekt aus. Er denkt an eine chemische Veränderung einiger Bestandteile des Nerven (Lipoide).
8. Der Bestrahlungseffekt hat ein Temperaturmaximum bei 20° C (14).

Makarow (15), dessen russische Originalarbeit nicht eingesehen werden konnte, stellte bei der Bestrahlung des Ischiadicus eine Steigerung der Erregbarkeit fest mit nachfolgenden Parabiose-Erscheinungen. Bei den Arbeiten von *Rascanu* (16) stehen die morphologischen Veränderungen einzelner Fasern (Untersuchung im Ultramikroskop) im Vordergrund. Rheobase und Chronaxie, die in Parallelpräparaten am ganzen Nerven gemessen wurden, zeigen unter Bestrahlung eine Rheobasensteigerung und Chronaxieabnahme ohne Restitution, während bei Röntgenbestrahlung eine Rheobasensenkung und Chronaxieerhöhung mit Restitution auftreten.

5. Diskussion

Es wurde gezeigt, daß nur das kurzwellige UV von 300 mμ abwärts einen Einfluß auf die Erregbarkeit des peripheren Nerven ausübt. Die Frage nach der Beteiligung des Aneurins am Erregungsvorgang ist damit noch nicht gelöst. Ein Beweis kann nur geliefert werden, wenn eine biologische Wirkkurve, d. h. die genaue Wellenlängenabhängigkeit der Erregbarkeitsveränderungen festgelegt werden kann. Nach dem Grotthus-Draperschen Gesetz zerfällt ein Stoff photochemisch bei Einstrahlung derjenigen Wellenlängen, die er absorbiert, im gleichen Maße mit der Absorption. Falls also die biologische Wirkungskurve der Absorptionskurve eines bestimmten Stoffes entspricht, kann daraus geschlossen werden, daß dieser Stoff zerstört worden ist.

Was für ultraviolettempfindliche Stoffe kommen bei Nerven in Frage? 1. Aneurin als Aktionssubstanz mit maximaler Absorption bei 255 mμ (v. Muralt 1, Minz 17). 2. Eiweißkörper und Nukleinsäuren mit

maximaler Absorption bei 278 mμ respektive 262 mμ, welche gegenüber UV eine hohe Empfindlichkeit besitzen. 3. Eventuell Lipoide (Audiat 3). Nach unseren bisherigen Versuchen liegen die beiden erstgenannten Gruppen im Bereiche der Möglichkeit. Die Absorptionskurven von Aneurin einerseits und der Nukleinsäuren anderseits liegen nahe beieinander. Damit also eine Unterscheidung zwischen diesen Stoffen ermöglicht würde, müßten die Wirkkurven außerordentlich genau sein, was aus schon genannten Gründen schwierig ist.

Alle biologischen UV-Wirkungen, außer der Vitamin-D-Bildung, die bis jetzt bekannt sind, lassen sich auf die Zerstörung lebender Zellen oder die Beeinflussung eiweißartiger Substanzen zurückzuführen (Meyer 10). Es handelt sich dabei um allgemeine Wirkungen destruktiver Art, die relativ langsam vor sich gehen. Es liegt nahe anzunehmen, daß die UV-Wirkung auf die Erregbarkeit des peripheren Nerven auf einer Eiweißdenaturierung beruht. Vor allem die Phase der Zerstörung ist damit zu erklären. Wie steht es aber mit der Phase der Übererregbarkeit? Hier handelt es sich um einen Prozeß, der schon nach Bruchteilen von Sekunden sehr aktiv einsetzt. Dies läßt an einen spezifisch photochemischen Prozeß denken, bei dem eine Aktionssubstanz, Aneurin (v. Muralt, Minz), zerstört wird. Dieser Prozeß steht in einem Antagonismus zu dem vorher beschriebenen Zerstörungsvorgang. Verschiedene Erscheinungen können mit dieser Hypothese erklärt werden. 1. Beim Bestrahlen des Ranvier'schen Schnürringes, wo die isolierende Myelinscheide fehlt, überwiegt die Zerstörung so stark, daß die Übererregbarkeitsphase verdeckt wird oder nur einige Sekunden dauert. 2. Die häufig beobachtete Abflachung der Kurve ist dadurch bedingt, daß die beiden Vorgänge sich eine Zeitlang aufheben. 3. Bei einer Nervenfaser, die durch andere Einflüsse geschädigt ist, tritt die Phase der Übererregbarkeit ebenfalls weniger in Erscheinung. 4. In der ersten Phase ist eine Restitution noch möglich, während sie in der Phase der Eiweißdenaturierung irreversibel sein muß. Vielleicht spielt auch der Vitamin-B-Gehalt, bedingt durch den Ernährungszustand der Frösche, eine Rolle.

Neben dieser rein chemischen Betrachtungsweise ist auch eine mehr physikalisch-chemische Deutung möglich. Durch UV-Wirkung würde eine Ionenverschiebung im Innern des Achsenzylinders entstehen und dadurch ein Einfluß auf die Polarisierbarkeit (10) der Membranen bewirkt. Da die Erregung nach Tasaki von einem Schnürring auf den andern überspringen soll, wäre es verständlich, daß die Bestrahlung des Schnürringes wirksamer ist als die Bestrahlung der Internodalstrecke. Eine Ionisation der Ringerlösung kommt, wie Audiat (12) gezeigt hat, nicht in Frage. Rascanu (16) erklärt den Schwellenanstieg mit einer durch die Strukturveränderungen der Neurofibrillen bedingten Widerstandsänderung im Achsenzylinder. Von allen diesen Erklärungen geben wir der ersten den Vorzug.

Arbeiten an Bakterien (18, 19, 20), Askarideneiern (21), Gewebskulturen, Eiweißstoffen haben bewiesen, wie schwierig es ist, genaue biologische Wirkkurven aufzunehmen. Diese Schwierigkeiten sind einerseits technischer Art und liegen anderseits am Versuchsobjekt. Die technischen Schwierigkeiten beziehen sich vor allem auf die im Kapitel 2 *d)* angedeuteten Intensitätsschwankungen der Lichtquelle. In bezug auf das Versuchsobjekt ist man den allgemeinen biologischen Versuchsschwankungen unterworfen, die bei der einzelnen Nervenfaser aber sicher geringer sind als am ganzen Nerven. Als Kriterium für die UV-Wirkung dient die zeitliche Abhängigkeit, die Kurvenform und eventuell die UV-Wirkungsschwelle. Es muß sich erweisen, ob mit diesen Daten der feinere Verlauf einer Wirkungskurve festgelegt werden kann.

6. Zusammenfassung

1. Die Veränderungen der Erregbarkeit des peripheren Nerven bei UV-Bestrahlung wurden an Sartoruis-Nervenfaser-Muskelpräparaten von Rana esculenta untersucht.
2. Langwelliges UV über 300 mμ ist unwirksam. Kurzwelliges UV ruft einen deutlichen, sehr rasch eintretenden Effekt hervor, der sich in einer Phase der Übererregbarkeit und anschließender Phase der Zerstörung äußert. Das Maximum des Bestrahlungseffektes liegt unterhalb 280 mμ.
3. Restitution ist nur in der Phase der Übererregbarkeit und auch dort nur beschränkt möglich.
4. Die internodale Strecke ist resistenter gegen Bestrahlung als der Ranvier'sche Schnürring. Der Bestrahlungseffekt am Ranvier'schen Schnürring ist auch qualitativ anders als an der internodalen Strecke.

Literatur

1. A. v. Muralt: Pflüg. Arch. **245,** 604, 1942; do. **246,** 746, 1943.
   — Schweiz. Med. Wochenschrift **73,** 1101, 1943.
2. Stämpfli, R.: Über den photochemischen Zerfall von Vitamin B_1, Thiochrom und Thiazol. Bern 1942.
   — Helv. Physiol. Acta **1,** 1943.
3. Audiat, J.: C. r. Soc. Biol. **107,** 931, 1931.
4. Kato, G.: Microphysiology of Nerve, Tokio 1934.
5. Tasaki, I.: Amer. J. Physiol. **125,** 367, 1939; **125,** 380, 1939.
6. Blair, E. A. and Erlanger: Amer. J. Physiol. **106,** 524, 1938.
7. Tasaki, I.: Amer. J. Physiol. **127,** 211, 1939.
8. Schaefer: Elektrophysiologie 1. Bd. Wien 1940. Literatur für alle reizphysiologischen Fragen, die berührt wurden.
9. Tasaki, I.: Pflüg. Arch. **244,** 696, 1941.
10. Meyer und Seitz: Ultraviolette Strahlen, Berlin 1942.
11. Schriever, H. und Cebulla: Pflüg. Arch. **241,** 1, 1939.
12. Schriever, H. und Bürkner: Pflüg. Arch. **243,** 223, 1940.
13. Audiat, J.: C. r. Soc. biol. **107,** 935, 1931; **107,** 1218, 1931.
14. Audiat, J.: C. r. Soc. biol. **116,** 320, 1934.
15. Makarow, P. O.: Vestn. Rentgenol. **15,** 34, 1935. R. B.
16. Rascanu, V., Dorogan und Capri: C. r. Soc. biol. **129,** 83, 1938.
17. Minz, B. et Agid, C.: C. r. Acad. Sci. Paris, **205,** 567, 1937.
18. Buchholz, J. und Jeney, A. v.: Zblt. Bakteriol. **133,** 299, 1935.
19. Ehrismann, O. und Noethling, F.: Hygiene und Infektionskrankheiten **113,** 597, 1932.
20. Gates, F. L.: J. gen. Physiol. **13,** 231, 1929.
21. Liechti, A. und Feistmann, E.: Strahlentherapie **62,** 393, 1938.